

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЩИТОВНИКА ПАХУЧЕГО, ПРОИЗРАСТАЮЩЕГО В ЯКУТИИ

В. В. Чемпосов, А. Г. Васильева, Н. К. Чирикова

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова»

Поступила в редакцию 01.07.2020 г.

Аннотация. В последние годы во всем мире прослеживается увеличение интереса населения к лекарственным средствам из растительного сырья. Использование средств растительного происхождения, в первую очередь, обусловлено их комплексным воздействием на организм больного и безопасностью при лечении различных хронических заболеваний или в целях профилактики. Преимуществами данных средств являются низкая токсичность, высокая эффективность и минимальные побочные действия при их применении. Растущий спрос на природные растительные компоненты вынуждает искать и исследовать всё новые источники получения полезных биологически активных соединений. Одним из таких биологически активных соединений является филицин, который встречается в растениях рода *Dryopteris*.

В статье представлены результаты изучения химического состава *D. fragrans* и разработки способа получения филицина из корневищ *D. fragrans*. Щитовник пахучий широко применяется в традиционной медицине якутов при лечении различных заболеваний. Произрастает по всей территории Якутии и является одним из самых распространённых видов папоротниковых. Сбор растительного материала проводился в 2018 г. в Оймяконском районе Республики Саха (Якутия). Для анализа растительного сырья проводился сбор надземной и подземной части растения в период его цветения. Сбор и хранение сырья осуществлялись согласно требованиям ГФ XIII. Количественное содержание дубильных веществ, алкалоидов определяли методом титриметрии, аскорбиновую кислоту и полисахариды определяли методом спектрофотометрии. В результате метаболомного исследования, было выявлено, что в *D. fragrans* накапливает следующие биологически активные соединения: дубильные вещества – $1.73 \pm 0.20\%$, алкалоидов — $0.70 \pm 0.03\%$, аскорбиновой кислоты — $0.65 \pm 0.05\%$, полисахаридов — $0.85 \pm 0.01\%$. Для разработки схемы получения филицина из *D. fragrans* были установлены оптимальные параметры: экстрагент - этиловый эфир, температура экстракции 20 °С, степень измельчения сырья 2 мм, соотношение сырье: экстрагент 1:6. Впервые изучен качественный и количественный состав биологически активных соединений *D. fragrans*, и разработан способ получения филицина из *D. fragrans*, произрастающего в Якутии.

Ключевые слова: *Dryopteris fragrans*, биологически активные соединения, качественный и количественный анализ, филицин.

Щитовник пахучий (*Dryopteris fragrans* (L.) Schott) является малоизученным лекарственным растением. Один из самых холодостойких папоротников, произрастает в арктической зоне России и всего мира, а также в альпийском и субальпийском поясе. Заготавливают у *D. fragrans* все растение целиком, вместе с подземными органами и отмершими, но сохранившимися листьями с прошлых лет. В народной медицине *D. fragrans* применяется в качестве ранозаживляющего, противовоспалительного, болеутоляющего, общеукрепляющего и тонизирующего средства при различных нервных расстройствах. Препараты

из корневища принимают внутрь как противовоспалительное при кишечных заболеваниях: колитах, дизентерии, а также при воспалении почек, нарушении обмена веществ и как глистогонное средство [1]. Отвар *D. fragrans* применяют при простуде, заболеваниях ЖКТ, сердца и опорно-двигательной системы [2]. В Якутии делают отвары и настои из листьев, которые применяют при заболеваниях ЖКТ, параличе, кашле и ломоте в суставах. Травница Васильева Е.П. использует отвар *D. fragrans* при лечении заболеваний кишечника или желчного пузыря. Слепцов Е.М. рекомендует использовать *D. fragrans* при простуде, заболеваниях ЖКТ, сердца и опорно-двигательной системы.

По данным литературы биологически активные соединения (БАС) в изучаемом растении представлены соединениями различной природы, которые обеспечивают совокупное профилактическое и лечебное действие. *D. fragrans* широко используется в китайской народной медицине для лечения кожных заболеваний, таких как, псориаз, сыпь, дерматит и артрита [3, 4, 5]. Китайские ученые выявили основные вторичные метаболиты *D. fragrans*, такие как, флороглюциды, кумарины, терпены, лигнаны, фенольные гликозиды и эфирные масла, которые обладают противогрибковыми, противовоспалительными и цитотоксическими свойствами. [6, 7, 8, 9, 10]. Многие исследования также показали, что экстракты *D. fragrans* обладают антимикробными свойствами и противораковым действием, а также улучшают проницаемость стенок кровеносных сосудов [7, 11, 12, 13]. Вторичные метаболиты растительного происхождения не только выполняют множество физиологических функций в растениях, но и играют важную роль в поддержании здоровья человека [14]. Таким образом, *D. fragrans* является перспективным растением и нуждается в комплексном исследовании.

Целью работы является изучение химического состава *D. fragrans*, и разработка способа получения филицина из корневищ.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлся щитовник пахучий - *Dryopteris fragrans* (рис.1). Образцы растительного сырья были собраны в Оймяконском районе Республики Саха (Якутия) (63°25'40"N, 140°36'13"E) в 2018 г. Для химического анализа растительного сырья собирали надземную часть и корневище растения в период цветения. Сбор, сушка и хранение растительного сырья осуществлялись согласно требованиям, описанным в ГФ XIII [15]. Для изучения химического состава исследуемого объекта были использованы методы качественного анализа на содержание групп соединений [15], методика определения суммы дубильных веществ в пересчете на танин (перманганатометрия) [15], методика определения аскорбиновой кислоты (титриметрия) [16], методика определения суммы алкалоидов (гравиметрия) [17], методика определения суммы полисахаридов (спектрофотометрия) [18]. Изучение ИК-спектров филицина проводили на приборе Фурье-спектрометр PARAGON-1000 (Perkin Elmer Corporation, США). Результаты расчета со-

держания биологически активных соединений представлены в виде среднего значения из шести параллельных определений по методике ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента».



Рис. 1. Общий вид *D. Fragrans* (Фитохимическое исследование щитовника пахучего, произрастающего в Якутии)

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для обнаружения отдельных групп БАС *D. fragrans* были проведены качественные реакции в водных и спиртовых извлечениях исследуемого растительного сырья. В результате проведения качественных реакций на основные БАС в *D. fragrans* с реактивом Вагнера-Бушарда и реактивом Драгендорфа найдены алкалоиды, с помощью лактонной пробы обнаружены кумариновые производные. Содержание дубильных веществ определяли 1% водным раствором желатины и 10% водным раствором железосамониевых квасцов. Щелочная проба показала в исследуемом растении наличие фенольных соединений. Содержание углеводов в *D. fragrans* определяли с помощью реакции Молиша, а также реакция Тильманса показала на наличие аскорбиновой кислоты в *D. fragrans*.

Присутствие фенольных соединений (флороглюцидов) в подземной части *D. fragrans* установили, добавляя 3—5 капель смеси равных объемов 1 %-ного раствора $FeCl_3$ и $K_4Fe(CN)_6$, результате образовалось темно-зеленое окрашивание. Также к 1 мл извлечения *D. fragrans* прибавили раствор ванилина в концентрированной HCl до появления красного окрашивания. В результате определения количественного содержания биологически активных соединений надземной части *D. fragrans* было установлено, что дубильных веществ — $1.73 \pm 0.20\%$, суммы алкалоидов — $0.70 \pm 0.03\%$, аскорбиновой кислоты — $0.65 \pm 0.05\%$, полисахаридов — $0.85 \pm 0.01\%$.

Для выделения филицина 50 г измельченных корневищ *D. fragrans* экстрагируют около 2 ч в аппарате Сокслета этиловым эфиром до тех пор, пока эфир не будет стекать бесцветным и 10 мл эфирного извлечения не перестанут оставаться при испарении видимого остатка. Извлечение фильтруют, эфир отгоняют на водяной бане до 30 мл, после чего остаток взбалтывают в делительной воронке с 30 мл насыщенного раствора гидроксида бария в течение 5 мин. После разделения слоев водный слой фильтруют. Фильтрат смешивают с 4 мл концентрированной HCl и последовательно взбалтывают с 30, 20, 15 мл этилового эфира. Объединенные эфирные извлечения обезвоживают 4 г безводного Na₂SO₄ и фильтруют через складчатый фильтр во взвешенную колбу. Сульфат натрия и фильтр промывают этиловым эфиром дважды по 10 мл. Эфир отгоняют на водяной бане, а остаток сушат в течение 1 ч при 100 °С. Для разработки схемы получения филицина из *D. fragrans* были установлены оптимальные параметры экстрагирования действующего вещества: экстрагент - этиловый эфир, температура экстракции 20 °С, степень измельчения сырья 2 мм, соотношение сырье: экстрагент 1:6.

Идентификация активного вещества проводилась с помощью методов УФ-, ИК- спектроскопии и по данным температуры плавления. Температура плавления выделенного вещества составила 184-185 °С, что соответствует данным температуры плавления чистого филицина. УФ-спектр выделенного вещества имеет два максимума в области 240-260 нм и 340-360 нм, что соответствует литературным данным УФ-спектра чистого филицина [19]. Интерпретация ИК- спектров (рис.2) выделенного вещества показала наличие: валентных колебаний ОН- групп при резкой интенсивной полосе 3494.4 см⁻¹, характерной для межмолекулярной водородной связи, валентных колебаний при 1234.4 см⁻¹ и 1078.1 см⁻¹ характерные для эфиров, деформационных колебаний ароматических (С-Н)- связей в области 900 - 700 см⁻¹, деформационных колебаний -СН₃ при 2878.6 см⁻¹, наличие полярной -С=О групп, характеризуется проявлением интенсивной полосы поглощения при 1656.0 см⁻¹. Межмолекулярная водородная связь снижает $\nu_{C=O}$ на 10-45 см⁻¹ [20, 21].

По разработанной схеме выделена филиксовая кислота (филицин) из эфирного извлечения *D. fragrans*. Филицин представляет собой аморфный порошок от желтого до желто-коричневого цвета, выход биологически активного вещества (фили-

цина) составил 14.17%. Выделенное вещество избирательно растворимо в органических растворителях (растворяется в этиловом спирте, мало растворимо в хлороформе), хорошо растворимо в щелочах и жирных маслах. Филицин негигроскопичен, не образует комки.

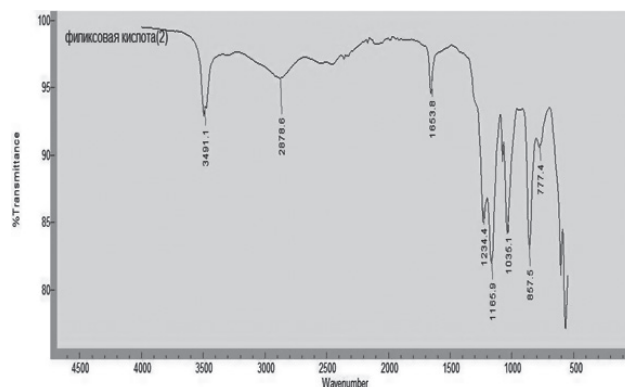


Рис. 2. ИК-спектр филицина из *D. fragrans* (Фитохимическое исследование щитовника пахучего, произрастающего в Якутии)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые изучен качественный и количественный состав биологически активных веществ и разработана технологическая схема получения филицина из *D. fragrans*, произрастающего в Якутии. Исследование метаболомного профиля *D. fragrans* показало, что данное растение накапливает следующие биологически активные соединения: дубильных веществ – 1.73±0.20%, суммы алкалоидов — 0.70±0.03%, аскорбиновой кислоты — 0.65±0.05%, полисахаридов — 0.85±0.01%. Разработан способ получения основного биологически активного вещества (филицина) из корневищ *D. fragrans*. Содержание филицина в эфирном извлечении *D. fragrans* составляет 14.17 %.

Результаты были получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки РФ (FSRG-2020-0019) и при поддержке РФФИ, проект № 19-09-00361.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Часть I - Семейства Lycopodiaceae - Euphorbiaceae; часть II - Дополнения к 1-7-му томам / Ред. Л.М. Беленовская, Л.И. Медведева. СПб. – 1996. – 571 с
2. Крещенок И. А. // Региональные проблемы. 2008. № 10, С. 76–78
3. Liu X., Liu J., Jiang T., Zhang L., Huang Y., Wan J., Song G., Lin H., Shen Z., Tang C. //Journal of ethnopharmacology. 2018. V. 226. pp. 36-43.

4. Lin H., Liu X., Shen Z., Cheng W., Zeng Z., Chen Y., Tang C., Jiang T. // *Journal of ethnopharmacology*. 2019. V. 241. 111956 p.
5. Shen Z. B., Jin Z. X., Zhang D. L. Liu J.J., Sun T. // *Chin. Tradit. Herb. Drugs*. 2002. V. 33. pp. 448-449
6. Teng X., Wang Y., Gu J., Shi P., Shen Z., Ye L. // *Molecules*. 2018. V. 23. № 12, 3116 p.
7. Huang Y. H., Zeng W. M., Li G. Y. Liu G.Q., Zhao D.D., Wang J., Zhang Y.L. // *Molecules*. 2014. V. 19. № 1, pp. 507-513.
8. Kuang H., Zhang Y., Li G. Zeng W., Wang H., Song Q. // *Fitoterapia*. 2008. V. 79. № 4, pp. 319-320.
9. Peng B., Bai R. F., Li P. Han X. Y., Wang H., Zhu C. C., Zeng Z. P. // *Journal of Asian Natural Products Research*. 2016. V. 18. № 1, pp. 59-64.
10. Zhao D.D., Zhao Q.S., Liu L. Chen Z. Q., Zeng W. M., Lei H., Zhang Y. L. // *Molecules*. 2014. V. 19. № 3, pp. 3345-3355.
11. Li S. S., Chang Y., Li B., Shao S. L., Zhang Z. Z. // *Genetics and Molecular Biology*. 2020. V. 43. № 2, pp. 1-7.
12. Ito H., Muranaka T., Mori K. Jin K. M., Tokuda H., Nishino H., Yoshida T. // *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 2000. V. 48. № 8, pp. 1190-1195.
13. Liu Z. D., Zhao D. D., Jiang S. Xue B., Zhang Y. L., Yan X. F. // *Molecules*. – 2018. V. 23. № 3, 680 p.
14. Jorgensen K., Rasmussen A. V., Morant M. Nielsen A. H., Bjarnholt N., Zagrobelny M., Bak S., Moller B. L. // *Current opinion in plant biology*. 2005. V. 8. № 3, pp. 280-291.
15. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XIII изд. Москва, 2015. 1470 с.
16. Григорьева М.П., Смирнова Е.В., Степанова Е.Н. // *Вопросы питания*. 1978. № 4, С. 60-67.
17. Химический анализ лекарственных растений. Ладыгина Е.Я., Сафронич Л.Н., Отрященко-ва В.Э. / под ред. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н. – М.: Высш. Шк., 1983. 176 с.
18. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. // *Химия растительного сырья*. 2006. № 4, С. 29-33.
19. Тарасевич Б.Н. ИК-спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы. Москва. 2012. 54 с.
20. Coşkun M., Sakushima A., Nishibe S. Hisada S. // *Phytochemistry*. 1982. V. 21. № 6, pp. 1453-1454.
21. Molodozhnikov L. M., Ban'kovskii A. I., Sergeev N. M., Shreter A. I. // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 1971. V. 5. № 7, pp. 415-418.

СВФУ имени М.К. Аммосова, Якутск.

*Чемпосов В. В., аспирант биологического
отделения института естественных наук
E-mail: soulkage94@gmail.com

*Васильева А. Г., студент биологического от-
деления института естественных наук
E-mail: kagamisatou@gmail.com*

*Чирикова Н. К., доктор фармацевтических
наук, профессор биологического отделения, зам.
директора института естественных наук
E-mail: hofnung@mail.ru*

Institute of Natural Sciences, NEFU

*Chempsov V. V., post-graduate student of the
biological department
Email: soulkage94@gmail.com

*Vasilyeva Aina Grigoryevna - student of the
biological department
Email: kagamisatou@gmail.com*

*Chirikova N. K., PhD., DSci., Associate
Professor, Professor of the Biological Department,
Deputy Director
E-mail: hofnung@mail.ru*

PHYTOCHEMICAL STUDY OF THE DRYOPTERIS FRAGRANS, GROWING IN YAKUTIA

V. V. Chempsov, A. G. Vasilieva, N. K. Chirikova

North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov

Abstract. In recent years, an increase in the interest of the population in herbal medicines has been observed throughout the world. The use of herbal products is primarily due to their complex effect on the patient's body and safety in the treatment of various chronic diseases or for prevention purposes. The advantages of these funds are low toxicity, high efficiency and minimal side effects during their use. The

growing demand for natural plant components makes it necessary to look for and explore new sources of obtaining useful biologically active compounds. One of these biologically active compounds is filicin, which is found in plants of the genus *Dryopteris*.

The article presents the results of studying the chemical composition of *D. fragrans* and the development of a method for obtaining filicin from *D. fragrans* rhizomes. *D. fragrans* is widely used in traditional medicine of the Yakuts in the treatment of various diseases. It grows throughout Yakutia and is one of the most common fern species. The collection of plant material was carried out in 2018 in the Oymyakonsky district of the Republic of Sakha (Yakutia). For the analysis of plant materials, the aboveground and underground parts of the plant were collected during its flowering period. The collection and storage of raw materials was carried out in accordance with the requirements of GF XIII. The quantitative content of tannins, alkaloids was determined by titrimetry, ascorbic acid and polysaccharides were determined by spectrophotometry. As a result of metabolomic research, it was revealed that *D. fragrans* accumulates the following biologically active compounds: tannins - $1.73 \pm 0.20\%$, alkaloids - $0.70 \pm 0.03\%$, ascorbic acid - $0.65 \pm 0.05\%$, polysaccharides - $0.85 \pm 0.01\%$. To develop a scheme for obtaining filicin from *D. fragrans*, the optimal parameters were established: extractant - ethyl ether, extraction temperature 20°C , grinding degree of raw materials 2 mm, raw material: extractant ratio 1: 6. For the first time, the qualitative and quantitative composition of biologically active compounds of *D. fragrans* was studied, and a method for obtaining filicin from *D. fragrans* growing in Yakutia was developed.

Keywords: *Dryopteris fragrans*, biologically active compounds, qualitative and quantitative analysis, filicin.

REFERENCES

1. Rastitel'nye resursy Rossii i sopredel'nykh gosudarstv: Chast' I - Semeistva Lycopodiaceae - Ephedraceae; chast' II - Dopolneniya k 1-7-mu tomam / Red. L.M. Belenovskaya, L.I. Medvedeva. SPb. – 1996. – 571 p
2. Kreshchenok I. A. // Regional'nye problemy. 2008. № 10, pp. 76–78
3. Liu X., Liu J., Jiang T., Zhang L., Huang Y., Wan J., Song G., Lin H., Shen Z., Tang C. // Journal of ethnopharmacology. 2018. V. 226. pp. 36-43.
4. Lin H., Liu X., Shen Z., Cheng W., Zeng Z., Chen Y., Tang C., Jiang T. // Journal of ethnopharmacology. 2019. V. 241. 111956 p.
5. Shen Z. B., Jin Z. X., Zhang D. L. Liu J.J., Sun T. // Chin. Tradit. Herb. Drugs. 2002. V. 33. pp. 448-449
6. Teng X., Wang Y., Gu J., Shi P., Shen Z., Ye L. // Molecules. 2018. V. 23. № 12, 3116 p.
7. Huang Y. H., Zeng W. M., Li G. Y. Liu G.Q., Zhao D.D., Wang J., Zhang Y.L. // Molecules. 2014. V. 19. № 1, pp. 507-513.
8. Kuang H., Zhang Y., Li G Zeng W., Wang H., Song Q. // Fitoterapia. 2008. V. 79. № 4, pp. 319-320.
9. Peng B., Bai R. F., Li P. Han X. Y., Wang H., Zhu C. C., Zeng Z. P. // Journal of Asian Natural Products Research. 2016. V. 18. № 1, pp. 59-64.
10. Zhao D.D., Zhao Q.S., Liu L. Chen Z. Q., Zeng W. M., Lei H., Zhang Y. L. // Molecules. 2014. V. 19. № 3, pp. 3345-3355.
11. Li S. S., Chang Y., Li B., Shao S. L., Zhang Z. Z. // Genetics and Molecular Biology. 2020. V. 43. № 2, pp. 1-7.
12. Ito H., Muranaka T., Mori K. Jin K. M., Tokuda H., Nishino H., Yoshida T. // Chemical and pharmaceutical bulletin. 2000. V. 48. № 8, pp. 1190-1195.
13. Liu Z. D., Zhao D. D., Jiang S. Xue B., Zhang Y. L., Yan X. F. // Molecules. – 2018. V. 23. № 3, 680 p.
14. Jorgensen K., Rasmussen A. V., Morant M. Nielsen A. H., Bjarnholt N., Zagrobelyny M., Bak S., Moller B. L. // Current opinion in plant biology. 2005. V. 8. № 3, pp. 280-291.
15. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii / MZ RF. – XIII izd. Moskva, 2015. 1470 p.
16. Grigor'eva M.P., Smirnova E.V., Stepanova E.N. // Voprosy pitaniya. 1978. № 4, pp. 60-67.
17. Khimicheskii analiz lekarstvennykh rastenii. Ladygina E.Ya., Safronich L.N., Otryashenkova V.E. / pod red. Grinkevich N.I., Safronich L.N. – M.: Vyssh. Shk., 1983. 176 p.
18. Olennikov D.N., Tankhaeva L.M. // Khimiya rastitel'nogo syr'ya. 2006. № 4, pp. 29-33.
19. Tarasevich B.N. IK-spektry osnovnykh klassov organicheskikh soedinenii. Spravochnye materialy. Moskva. 2012. 54 p
20. Coşkun M., Sakushima A., Nishibe S. Hisada S. // Phytochemistry. 1982. V. 21. № 6, pp. 1453-1454.
21. Molodozhnikov L. M., Ban'kovskii A. I., Sergeev N. M., Shreter A. I. // Pharmaceutical Chemistry Journal. 1971. V. 5. № 7, pp. 415-418.